

主 論 文 要 旨

報 告 番 号	① 乙 第	号	氏 名	大 谷 利 光
主 論 文 題 名				
The neurorestorative effect of human amniotic fluid stem cells on the chronic phase of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy in mice (低酸素性虚血性脳症モデルマウスに対するヒト羊水幹細胞慢性期投与の神経回復効果)				
(内 容 の 要 旨)				
<p>低酸素性虚血性脳症 (Hypoxic-ischemic encephalopathy: HIE) は、脳性麻痺の主要因である。骨髄や脂肪等に由来する間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cells: MSC) は、HIE に対する治療効果を持つことが報告されている。ヒト羊水幹細胞 (human amniotic fluid stem cells: hAFS) はMSCの一種であり、妊娠中から分離・培養が可能なため新生児期における自家移植の準備が可能である。現在、HIEの急性期～亜急性期(低酸素傷害から72時間以内)に、低体温療法や自己臍帯血幹細胞投与が臨床応用されているが、効果は限定的であり、慢性期 (低酸素傷害から72時間以降) にも実施可能な追加療法が求められている。hAFSのHIEの慢性期における治療効果に関しては、これまで報告がないため本研究で検討した。</p> <p>羊水中からCD117陽性細胞を分離しhAFSを採取した。生後9日目 (P9) のC57BL/6マウスに右総頸動脈結紮と低酸素負荷 (8%酸素に30分間)を行い、HIEモデルマウスを作成した。P19に治療群にはhAFS (5.0×10⁵細胞/匹) のPBS懸濁液を、非治療群にはPBSを鼻腔内投与した。P30に、シリンドertest (四肢運動左右差試験) とロータロッドテスト (四肢協調運動試験) により運動機能を評価した後に脳を摘出し、脳冠状断面積の患側 (右半球) /健側 (左半球) 比を計測した。脳組織標本をNeuron (灰白質の主要構成細胞), Oligodendrocyte (白質の主要構成細胞), Astrocyte及びMicroglia (神経炎症を反映する細胞群) に対する抗体を用いて免疫組織染色を行なった。さらに、蛍光色素PKH26で標識したhAFSをP19に鼻腔内投与し、脳組織標本で脳実質への生着を評価した。</p> <p>P19のhAFS投与前における運動機能試験では2群間に有意差を認めなかった。P30には、シリンドertest及びロータロッドテスト両方において、hAFS投与による有意な運動機能改善が示された。脳実質冠状断面積比の検討では、前頭極から6mmの断面において治療群で、患側/健側比の改善を認めた。免疫組織学的評価では、灰白質及び白質は、ともに治療群で有意に回復し、神経炎症を反映するAstrocyte及びMicroglia は、ともに治療群で減少した。標識hAFS投与後の脳組織標本で、一過性にPKH26陽性細胞を認めた。鼻腔内投与されたhAFSは、HIEモデルマウスにおいて一過性に脳に生着し、HIEにより傷害された脳神経を回復して運動機能傷害を軽減した。hAFS投与はHIE慢性期における新規治療法となる可能性が示唆された。</p>				